
ARTÍCULO ORIGINAL

Aplicación de una estrategia en el diagnóstico prenatal del mosaicismo cromosómico para la eliminación de falsos positivos.

Application of a prenatal strategy for the diagnosis of chromosomal mosaicism for the elimination of false positives.

Luis A. Méndez Rosado,^I Aracelys Lantigua Cruz,^{II} Olga Quiñones Maza,^{III} Anduriña Barrios Martínez,^{IV} Michel Soriano Torres,^V Nereida González García,^{VI} Enny Morales Rodríguez,^{VII} Minerva García Rodríguez.^{VIII}

^I Doctor en Ciencias de la Salud. Máster en Ciencias en Genética Médica. Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar. Profesor Asistente. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba. E-mail: albermen@infomed.sld.cu

^{II} Doctora en Ciencias Médicas. Doctora en Medicina. Especialista de Segundo Grado en Genética Clínica. Profesora Titular. Investigador Titular. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{III} Máster en Ciencia en Genética Médica. Investigadora agregado. Centro Provincial de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{IV} Máster en Ciencias en Genética Médica. Investigadora Agregado. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^V Máster en Bioinformática. Investigador Agregado. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{VI} Máster en Ciencias en Genética Médica. Licenciada en Biología. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{VII} Máster en Ciencias en Genética Médica. Licenciada en Biología. Investigador Auxiliar. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{VIII} Técnico en laboratorio. Centro Nacional de Genética Médica. Ciudad de La Habana, Cuba.

Resumen

El mosaicismo cromosómico es un evento con una frecuencia entre el 0,10-0,30% en el diagnóstico prenatal citogenético por cultivo de amniocitos. Constituye una de las limitantes de este tipo de diagnóstico prenatal debido a que existen eventos confusores que pueden entorpecer la absoluta seguridad en el resultado final. Se propuso una estrategia para eliminar falsos positivos en el diagnóstico de aquellos casos con sospecha de mosaicismo cromosómico, tomando en cuenta el análisis realizado en 16 950 casos del laboratorio de citogenética del Centro Nacional de Genética Médica y los reportes de la literatura internacional. Se compararon dos periodos de trabajo del mismo laboratorio (1984-1999 y 2003-2007). Se demostró el aumento de la eficacia del diagnóstico, en aquel periodo en que fue aplicada la estrategia, por eliminación de casos falsos-positivos debido a pseudomosaicos de aberraciones estructurales principalmente. Los resultados de este estudio permiten recomendar la generalización de esta estrategia a los restantes laboratorios de citogenética del país.

Palabras clave: diagnóstico prenatal, mosaicismo cromosómico, pseudomosaicismo, amniocitos.

Abstract

Chromosomal mosaicism is an event having an occurrence from 0,10% to 0,30% in cytogenetic prenatal diagnosis by amniocytes culture. This is a limiting factor of this type of prenatal diagnosis since there are confounding events that may hinder the absolute confidence in the diagnosis of those cases suspected of chromosomal mosaicism. A total of 16 950 cases of the cytogenetics laboratory of the National Center of Medical Genetics and the reports published in the international literature were analyzed.. Two work periods of the same laboratory were compared (1984 – 1999 and 2003 – 2007). The improvement in diagnosis efficiency in the period when the strategy was applied, mainly due to the elimination of false positive cases of structural aberrations pseudomosaicism, was demonstrated. The results of this study support the recommendation of generalizing this strategy to the rest of the cytogenetics laboratories in the country.

Keywords: Mosaicism, diagnosis efficiency, false positive cases.

Introducción

El Diagnóstico Prenatal Citogenético (DPC) por cultivo de amniocitos presenta un alto nivel de confiabilidad en sus resultados, no obstante dentro de las limitaciones reconocidas para el mismo se encuentra el diagnóstico del mosaicismo cromosómico fetal, evento inusual que aparece en un rango entre el 0,10 al 0,30%.¹⁻⁴

La labor de un citogenetista durante la realización de un diagnóstico prenatal debe incluir la detección del mosaicismo cromosómico, latente en el feto, mediante el examen de los cariotipos provenientes de un conjunto de células cultivadas en diferentes frascos. En el laboratorio debe ser establecida una estrategia que permita llevar a cabo un diagnóstico de este evento con un alto grado de confiabilidad. Sin embargo, existen eventos confusores como el mosaicismo confinado a tejido extraembrionario o los efectos de la impronta genómica, que crean una limitante para hacer esta estrategia absolutamente segura.⁵

El presente trabajo se basa en la labor del Laboratorio de Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica durante más de 20 años de trabajo en el diagnóstico prenatal citogenético. En este periodo se analizaron 16 950 muestras para DPC por cultivo de amniocitos, lo cual permitió la validación de una estrategia para el diagnóstico del mosaicismo cromosómico fetal. Fue nuestro objetivo demostrar el aumento de la eficacia del DPC, una vez que fue aplicada en el laboratorio esta estrategia para el diagnóstico y manejo del mosaicismo cromosómico mediante la comparación de dos periodos de trabajo.

Métodos

En el año 2008 se realizó una reevaluación de todos los casos de DPC del Laboratorio de Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica comprendidos entre el periodo 1984-2007. Se seleccionaron 16 950 casos con DPC, utilizando los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión:

- 1- Casos en que el análisis de las metafases se realizó con bandeo GTG de al menos dos frascos de cultivo.
- 2- Casos en que el conteo de metafases superó las 10 células analizadas.
- 3- Las células con monosomías cromosómicas se tuvieron en cuenta, solamente cuando se repitió la aneuploidía del mismo cromosoma en el caso.

Criterios de exclusión:

- 1- Casos sin resultados

2- Casos con un conteo insuficiente de metafases

3- Casos en los que no fue posible descartar aberraciones estructurales, por deficiencias en el bandeo GTG.

Se aplicaron los criterios técnicos de Boué y colaboradores⁶ (Tabla 1) en aquellos casos en los que se encontraron dos o más líneas celulares.

Tabla 1. Criterios de Boué para clasificar los casos en mosaicos y pseudomosaicos.⁶

Niveles	Descripción del hallazgo detectado
Nivel I o pseudomosaicismo I	Presencia de sólo una célula anormal en uno de los frascos de cultivo.
Nivel II o pseudomosaicismo II	Se presentan múltiples células con idéntica aberración, pero únicamente en un frasco de cultivo
Nivel III o mosaico verdadero	Se observa la misma aberración en diferentes frascos de cultivo o como mínimo en 2 de ellos. Está presente en los tejidos de la placenta y/o tejidos fetales

Tipo de Estudio

Se realizó una investigación observacional descriptiva, longitudinal. En una primera etapa, iniciada en el año 1999, tuvo un carácter longitudinal retrospectivo. A partir del año 1999 tuvo un carácter longitudinal prospectivo debido a que los autores continuaron con su estudio hasta culminarlo en el año 2007. No obstante, para obtener las conclusiones finales del trabajo y mayor rigor científico, los autores hicieron una reclasificación de todos los casos seleccionados para conformar su universo de estudio y lograr homogeneidad en el análisis de los criterios técnicos para la evaluación del mosaicismo y el pseudomosaicismo.

Selección de los periodos a comparar

Fueron seleccionados dos periodos de trabajo, de 1984 al 1998 en que eran desconocidos para el laboratorio los criterios de Boué para clasificar el mosaicismo y el pseudomosaicismo y no se aplicaba la guía de Hsu y Benn⁸ para optimizar el

trabajo en el mismo. En dicho periodo no se aplicaba ninguna estrategia para el manejo del mosaicismo cromosómico. En el periodo 2003-2007 ya existía en el laboratorio una estrategia bien definida y generalizada para el diagnóstico del mosaicismo cromosómico en el DPC, aplicándose los criterios de Boué, la guía modificada de Hsu y Benn y se tomó la decisión de notificar en los registros del laboratorio los casos de pseudomosaicos pero en ningún caso informarlo a los pacientes. El periodo 1999-2002 fue de transición y en él se aplicaban algunos acápite de la guía y otros no, por lo que se decidió no tenerlo en cuenta para la comparación.

Estudios de corroboración citogenética del resultado del DPC

En aquellos casos con diagnóstico de mosaicismo cromosómico o una sospecha de mosaicismo se realizaron estudios de confirmación del resultado prenatal. Estos se hicieron utilizando linfocitos de la sangre o fibroblastos de la piel tomados del material abortivo (si el embarazo fue interrumpido). Otro método de corroboración utilizado fue la

cordocentesis, que permite la obtención de sangre fetal por punción de la base del cordón umbilical intraútero. A partir del cultivo de los linfocitos de esta muestra de sangre se obtuvieron cromosomas para confirmar el resultado obtenido en el cultivo de las células amnióticas.

Estudios citogenéticos en los padres

Cuando la línea aberrada involucrada en el mosaico cromosómico del DPC era probable hallarla en alguno de los padres, como en los casos de marcadores cromosómicos supernumerarios, se realizaron estudios cromosómicos a ambos progenitores. Para ello se utilizó el cultivo de leucocitos de sangre periférica. El resultado de estos estudios permitió determinar si el hallazgo prenatal era heredado o *de novo* y así estimar el mayor o menor riesgo de anomalías para la descendencia. Una vez conocido el resultado le fue informado al asesor genético para que ofreciera el asesoramiento correspondiente.

Consentimiento informado para la realización de este estudio

Para la realización de los estudios citogenéticos fue necesario realizar procedimientos invasivos como la amniocentesis o la cordocentesis, en los cuales existe un

determinado riesgo para la salud de la mujer embarazada o la continuación del embarazo.

En otras ocasiones para corroborar el resultado del diagnóstico prenatal citogenético se tomaron muestras del material abortivo, piel y sangre o sangre del recién nacido. Para cada una de estas situaciones fue establecido un consentimiento informado. En los casos de la amniocentesis y la cordocentesis se confeccionó de manera escrita y fue firmado por la gestante en caso de estar de acuerdo con el estudio. Para los estudios de corroboración el consentimiento informado fue verbal, y se procedió a realizar el análisis si los padres estaban de acuerdo.

Las muestras biológicas obtenidas durante la realización del estudio se desecharon inmediatamente después que se obtuvo un resultado, y no se utilizaron con otros fines.

El protocolo de esta investigación fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación del Centro Nacional de Genética Médica (CNGM).

Técnicas citogenéticas convencionales

La obtención de cromosomas a partir de tejidos de piel, sangre y líquido amniótico se realizó según las técnicas citogenéticas descritas en el Manual del Laboratorio de Citogenética (3ra edición)⁹ y adaptadas a las condiciones de nuestro laboratorio.

Metodología de la estrategia aplicada

Tomando como base la experiencia acumulada en el estudio de los 16 950 DPC y la literatura internacional, se estableció una estrategia, adaptada a las condiciones de nuestro laboratorio y que se aplicó íntegramente en el periodo 2003 al 2007 con el objetivo de evaluar su efectividad.

La estrategia estableció los siguientes pasos:

1^{ero}- Ante el hallazgo de una célula o línea celular con un complemento cromosómico diferente al diagnosticado previamente se aplicó la guía de Hsu y Benn, que ayuda a agilizar la labor en el laboratorio, definiendo tres niveles de trabajo de acuerdo al tipo de aberración y cromosoma involucrado en la línea anómala.^{7,8}

2^{do}- Aplicación de los criterios de Boué acerca de los diferentes niveles técnicamente establecidos para el diagnóstico del pseudomosaicismo I y II o el mosaicismo.⁶

3^{ro}- Diagnóstico del mosaicismo cromosómico cuando la línea aberrada apareció en diferentes frascos de cultivo. La información diagnóstica fue comunicada al especialista en Genética Clínica que indicó el estudio.

- **3^{ro}(a)**- En caso de tratarse de un mosaicismo de cromosoma marcador, se citó a los padres para corroborar si se trataba de un suceso heredado o *de novo*, teniendo en cuenta que el riesgo es más elevado en los eventos *de novo*.^{10,11}

4^{to}- Diagnóstico del pseudomosaicismo:

Cuando la célula o línea anómala apareció restringida a un solo frasco de cultivo, después de concluir el conteo de metafases estipulado en la guía de Hsu y Benn, el evento fue anotado en los registros del laboratorio, pero no informado a la pareja.

5^{to} Cuando no fue posible analizar un número suficiente de metafases:

En los casos donde el conteo celular fue insuficiente para cumplir con los requerimientos de la guía de Hsu y Benn, o solo se pudo hacer el análisis citogenético en un frasco de cultivo, por no existir el adecuado crecimiento celular en los restantes frascos, no fue posible establecer un diagnóstico certero entre mosaicismo o pseudomosaicismo. En estos casos se realizó un análisis multidisciplinario de los mismos, interviniendo citogenetistas, genetistas clínicos, obstetras y especialistas en ecografía.

En nuestro estudio, con el objetivo de ampliar el número de metafases analizadas, se utilizó la cordocentesis, que además permite el análisis citogenético en otro tejido fetal. La limitante es que el cultivo de los linfocitos de la sangre fetal, puede dar una falsa expectativa de seguridad, al no encontrarse la línea aberrada en este tejido pero si estar presente en otros órganos del feto.¹²⁻²¹ Según los reportes internacionales y la experiencia nuestra, la cordocentesis brinda mayor seguridad cuando se trata de aneuploidías de los cromosomas 21, 18, 13, 9, 8^{5,22} y X (datos no publicados, experiencia del laboratorio de citogenética del CNGM). Cuando en la línea anómala estén implicadas aneuploidías de otros cromosomas, aberraciones estructurales o de cromosomas marcadores esta prueba invasiva debe ser valorada cuidadosamente tomando en cuenta sus riesgos y beneficios limitados.

Cuando la línea aberrada no pueda ser confirmada mediante la cordocentesis, deberán tenerse en cuenta para la estimación del riesgo de un mosaico diversos factores, como: el motivo de indicación del estudio prenatal, el tipo de aberración y/o cromosoma involucrado en la línea aberrada, el porcentaje de la línea aberrada y la sospecha de malformaciones por ecografía de alta resolución.

En los casos en que a consecuencia de un diagnóstico de mosaicismo o la estimación de un alto riesgo de mosaicismo, la pareja decida la interrupción del embarazo, el diagnóstico debe ser confirmado en el material abortivo utilizando muestras de tejido de sangre, piel de diferentes regiones del cuerpo y placenta.

Resultados

La aplicación de los criterios técnicos de Boué en el análisis de los casos en los que se encontraron dos o más líneas celulares, en estos 24 años de labor, permitió la detección de 616 casos de pseudomosaicismo, distribuidos en 553 de nivel I y 63 de nivel II, así como de 48 casos de mosaicos cromosómicos.

A partir de esta muestra fueron obtenidas las frecuencias de mosaicismo y pseudomosaicismo, y se realizó el seguimiento de los casos reportados como mosaicos o pseudomosaicos para detectar posibles alteraciones fenotípicas.

Comparación de dos períodos de trabajo del laboratorio

Periodo 1984-1998

En los 4 884 DPC realizados en este periodo, a partir de muestras obtenidas por amniocentesis, se encontraron 24 casos de mosaicos cromosómicos, para una frecuencia del mosaicismo del 0,49%. Fueron reportados cinco casos de mosaicos de aberraciones estructurales, siendo la frecuencia de este mosaicismo del 0,1% (5/4884). Estos resultados fueron publicados en el año 1999 por nuestro laboratorio.²³

Los casos de aberraciones estructurales reportadas como mosaicos fueron los siguientes: (se ha respetado la nomenclatura utilizada en el artículo al que se hace referencia).²³

- 46,XX, t(X;14)/46,XX: Caso LA-179-1998, en el que se observaron 3 metafases con esta translocación restringidas a un frasco de cultivo. En el otro frasco todas las metafases fueron normales.
- 46,XY, t(3q;7q)/46,XY: Caso LA-362-1998; apareció esta translocación en dos metafases de un frasco de cultivo. Los otros dos frascos de cultivo analizados fueron normales.
- 46,XX,del(8p)/46,XX: Caso LA-316-1998; se observó una metafase con un 8p- y 34 metafases normales.

- 46,XX, t(9;17)/46,XX: Caso LA- 273-1989; se observó una metafase con una translocación entre los cromosomas 9 y 17. Las restantes 18 metafases fueron normales, 46,XX.

- 46,X,i(X)(q10)/45,X/46,XX: Caso LA- 469-1989; las tres líneas celulares se encontraron en diferentes frascos de cultivo.

Se reportó además un caso de mosaicismo de una trisomía del cromosoma 14.

- 47,XY,+14/46,XY: Caso LA-332-1994, la trisomía 14 apareció en dos ocasiones, pero restringida a un frasco de cultivo.

Periodo 2003 -2007

En estos años se hicieron 6 274 DPC y se hallaron 13 mosaicos cromosómicos. Esto muestra un índice de mosaicismo cromosómico en cultivo de amniocitos del 0,20% (13/6274).

En este periodo fueron hallados 3 casos de mosaicismo de aberraciones estructurales para un 0,04% (3/6274).

Discusión

En el trabajo publicado por nuestro laboratorio en el año 1999²³ la frecuencia de mosaicos de aberraciones estructurales fue del 0,1% (5/4884). En reportes internacionales la frecuencia de este mosaicismo varía en un rango entre 0,02%-0,04%.^{3,22,24} Esto sugiere un aumento de los casos falso-positivos en este periodo a expensas de este tipo de mosaicismo.

Como se describe en el acápite de resultados, en la etapa 1984-1998 se diagnosticaron casos de pseudomosaicos como mosaicos reales, debido a la incorrecta clasificación del mosaicismo cromosómico en el DPC. Debemos tener en cuenta la alta incidencia del "mosaico" de aberraciones estructurales reportado, unido al hecho que el caso 47,XY,+14/46,XY también constituye un pseudomosaicismo de nivel II y fue reportado como un mosaico real. Si de este muestreo fuesen eliminados estos 5 casos, que realmente eran pseudomosaicos, la frecuencia de mosaicismo descendería a 0,3% (19/4884) y estaría dentro de los parámetros reportados internacionalmente. (Tabla 2)

Tabla 2. Comparación de los periodos 1984-1999 y 2003-2007 con los rangos establecidos internacionalmente.

Estudios por periodos	Porcentaje de mosaicismo	Mosaicos de Aberraciones Estructurales
1984-1999	0,49%	0,1%
2003-2007	0,20%	0,04%
Rangos establecidos internacionalmente (EEUU, Europa, Canadá)	0,10-0,30%	0,02-0,04%

En el periodo 2003-2007, con la introducción de una estrategia para el DPC del mosaicismo y el pseudomosaicismo cromosómico, se logró reducir considerablemente la frecuencia de casos diagnosticados con mosaicismo a un 0,20%, cifra muy por debajo de lo reportado en el trabajo de 1999 (0,49%).

En esta segunda etapa solo fueron diagnosticados tres casos de mosaicos de aberraciones estructurales para una frecuencia del 0,04% (3/6274), coincidente con el rango reportado en grandes muestreos internacionales.^{3,22,24} Las aberraciones estructurales son esencialmente las que más aportan al pseudomosaicismo cromosómico en el DPC, siendo una fuente potencial de falsos positivos en este diagnóstico, por lo cual deben ser tratadas con extrema cautela.

La disminución de casos falsos positivos en el periodo 2003-2007 es indicador de una mayor calidad en el DPC. De todos los casos que fueron diagnosticados como pseudomosaicos no existió alguno que tuviese alguna anomalía al nacimiento, imputable a la aberración cromosómica involucrada en el pseudomosaicismo.

El mayor logro del periodo de trabajo 2003-2007 fue que ninguno de los 12 casos de pseudomosaicismo tipo II, con mayor riesgo de ser informado como un falso-mosaico, fue informado por el laboratorio como un caso positivo. En el marco del asesoramiento genético los padres recibieron un diagnóstico fidedigno y se evitó incertidumbre en la pareja acerca de si continuaba o no su gestación.

Actualmente, los casos con pseudomosaicismo tipo I y II son evaluados cuidadosamente en el laboratorio, siguiendo las normas establecidas para el efecto.

Una vez que se concluye el diagnóstico de pseudomosaicismo, este resultado queda en los libros de registros del laboratorio, pero no se le da a conocer a la pareja, por considerarse innecesario y fuente de confusión y ansiedad para la misma.

Consideramos que la aplicación de esta estrategia debe ser extendida a los laboratorios de citogenética del país por su demostrada eficacia. Mediante el uso de la técnica FISH, introducida en nuestro laboratorio desde el año 2009, será posible analizar un mayor número de células fetales en interfase y lograr un análisis más efectivo del mosaicismo cromosómico para las más frecuentes aneuploidías del segundo trimestre del embarazo. Con esta técnica será posible además la determinación del mosaicismo de bajo nivel mucho más frecuente de lo que realmente se espera y la identificación precisa de cromosomas marcadores en mosaicos.²⁵⁻³¹

Referencias bibliográficas

- 1- Hsu YLF. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In: Milunsky A., ed. Genetic disorder and the fetus: diagnosis, prevention and treatment. 4th ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press;1998:155.
- 2- Worton RG, Stern R. A Canadian collaborative study of mosaicism in amniotic fluid cell cultures. Prenat Diagn. 1984;4(Spec No):131-44.
- 3- Bui TH, Iselius L, Lindsten J. European collaborative study on prenatal diagnosis: mosaicism, pseudomosaicism and single abnormal cells in amniotic fluid cell cultures. Prenat Diagn. 1984 Spring;4 Spec No:145-62.
- 4- Hsu LYF, Perlis TE. United States survey on chromosome mosaicism and pseudomosaicism in prenatal diagnosis. Prenat Diagn. 1984;4:97-130.
- 5- Hsu Lillian Y F, Ming-Tsung Yu, Richard L Neu, Daniel L Van Dyke, Benn A, Bradshaw CI, et al. Rare Trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes, involving an autosome other than chromosomes 13, 18, 20, and 21: Karyotype/Phenotype correlations. Prenat Diagn. 1997;17(3):201-242.
- 6- Boué J, Morer I, Laisney V, Boué A. Prenatal diagnosis: results of 1530 amniotic taps and prospective study of 1023 cases. Nouv Presse Med. 1979; 8(37):2949-53.
- 7- Hsu LYF, Kaffe S, Jenkins BC, Alonso L, Benn PA, David K, Hirschhorn K, Lieber E et al. Proposed guidelines for diagnosis of chromosome mosaicism in amniocytes

based on data derivated from chromosome mosaicism and pseudomosaicism studies. Prenat Diagn. 1992;12:555-573.

- 8- Hsu LYF, Benn PA. Revised Guidelines for the Diagnosis of Mosaicism in Amniocytes. Prenat Diagn. 1999;19:1081-1090.
- 9- Margaret J. Barch, Turid Knutsen and Jack L. Spurbeck The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins; 1997.
- 10- Crolla JA, Youings SA, Ennis S, Jacobs PA. Supernumerary marker chromosomes in man: parental origin, mosaicism and maternal age revisited. Eur J Hum Genet. 2005;13(2):154-60.
- 11- Douet-Guilbert N, Basinko A, Le Bris M, Herry A, Morel F, Braekeleer M. Strategies to identify supernumerary chromosomal markers in constitutional cytogenetics. Pathol Biol. (Paris). 2008;56(6):362-7.
- 12- Chen CP, Su YN, Chern SR, Hwu YM, Lin SP, Hsu CH, et al . Mosaic Trisomy 7 at Amniocentesis: Prenatal Diagnosis and Molecular Genetic Analyses. Taiwan J Obstet Gynecol. 2010;49(3):333-340.
- 13- Chen CP. Detection of mosaic isochromosome 20q in amniotic fluid in a pregnancy with fetal arthrogryposis multiplex congenita and normal karyotype in fetal blood and postnatal samples of placenta, skin, and liver. Prenat Diagn. 2003 Jan;23(1):85-7.
- 14- Biri A, Karaoğuz MY, Ince GD, Ergün MA, Menevşe S, Bingöl B. Double aneuploidy involving trisomy 7 with Potter sequence. Eur J Med Genet. 2005 Jan-Mar;48(1):67-73.
- 15- Sahin FI, Yilmaz Z, Uckuyu A, Ozalp O, Tarim E, Deren O, Yanik F. Prenatal diagnosis of mosaicism identified in amniotic fluid cell cultures. Genet Couns. 2006;17(3):341-8.
- 16- Zaslav AL, Pierno G, Davis J, Fougner A, Jacob J, Kazi R, Blumenthal D, et al. Prenatal diagnosis of trisomy 3 mosaicism. Prenat Diagn. 2004 Sep;24(9):693-6.
- 17- Basel-Vanagaite L, Davidov B, Friedman J, Yeshaya Y, Magal N, Drasinover V, et al. Amniotic trisomy 11 mosaicism--is it a benign finding? Prenat Diagn. 2006 Sep;26(9):778-81.
- 18- Utermann B, Riegel M, Leistritz D, Karall T, Wisser J, Meisner L, et al. Pre- and postnatal findings in trisomy 17 mosaicism. Am J Med Genet A. 2006 Aug 1;140(15):1628-36.

- 19- Hahnemann JM, Nir M, Friberg M, Engel U, Bugge M. Trisomy 10 mosaicism and maternal uniparental disomy 10 in a liveborn infant with severe congenital malformations. *Am J Med Genet A*. 2005 Oct 1;138A(2):150-4.
- 20- Petit F, Holder-Espinasse M, Duban-Bedu B, Bouquillon S, Boute-Benejean O, Bazin A, et al. Trisomy 7 mosaicism prenatally misdiagnosed and maternal uniparental disomy in a child with pigmentary mosaicism and Russell- Silver syndrome. *Clin Genet*. 2010 Dec 28.
- 21- Melis D, Pia Sperandio M, Perone L, Staiano A, Andria G, Sebastio G. Mosaic 13q13.2-ter deletion restricted to tissues of ectodermal and mesodermal origins. *Clin Dysmorphol*. 2006 Jan;15(1):13-8.
- 22- Hsu LYF, Yu MT, Richkind KE, Van Dyke DL, Crandall BF, Saxe DF, Khodr GS, Mennuti M, Stetten G, Miller WA, Priest JH. Incidence and significance of chromosome mosaicism involving an autosomal structural abnormality diagnosed prenatally through amniocentesis: a collaborative study. *Prenat Diagn*. 1996;16:1-28.
- 23- Quintana J, Quiñones O, Méndez LA, Lavista M, Dieppa N, Gómez M et al. Resultados del Diagnostico Prenatal Citogenético en las Provincias Occidentales de Cuba. *Rev Cubana de Genet Hum*. 1999;1(3).
- 24- Kleczkowska A, Fryns JP, Van den Berhe, H. On the Variable effect of mosaic/normal balanced chromosomal rearrangements in man. *J Med Genet*. 1990;27:505-507.
- 25- Iourov I, Vorsanova G and Yurov. Chromosomal mosaicism goes global. *Molecular Cytogenetics*. 2008;1:26
- 26- Hultén M, Patel S, Tankimanova M, Westgren, Papadogiannakis N, Jonsson A and Iwarsson E. On the origin of trisomy 21 Down syndrome. *Molecular Cytogenetics*. 2008; 1:21.
- 27- Hultén M, Patel S, Tankimanova M, Westgren, Papadogiannakis N, Jonsson A and Iwarsson E. On the paternal origin of trisomy 21 Down syndrome *Molecular Cytogenetics*. 2010;3:4.
- 28- Kitsiou-Tzeli S, Manolakos E, Lagou M, Kontodiu M, Kosyakova N, Ewers E et al. Characterization of a prenatally assessed de novo supernumerary minute ring chromosome 20 in a phenotypically normal male. *Mol Cytogenet*. 2009 Jan;2(1):1.

- 29- Huang B, Solomon S, Thangavelu M, Peters K, Bhatt S Supernumerary marker chromosomes detected in 100,000 prenatal diagnoses: molecular cytogenetic studies and clinical significance. *Prenat Diagn.* 2006 Dec;26(12):1142-50.
- 30- Liehr T, Ewers E, Kosyakova N, Klaschka V, Rietz F, Wagner R, Weise A. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2009 May;9(4):317-24.
- 31- Liehr T, Utine G, Trautmann U, Rauch A, Kuechler A, Pietrarcz J et al. Neocentric small supernumerary marker chromosomes (sSMC)--three more cases and review of the literature. *Cytogenet Genome Res.* 2007;118(1):31-7.